

**SIMULTANE BESTIMMUNG VON ELEKTROLYTEN,
AMYLASE, GESAMTEIWEISS UND
ANTITRYPTISCHER AKTIVITÄT AUS DEM
FRAKTIONIERT GEWONNENEN PAROTISSEKRET**

Wolfgang Bolz

1975



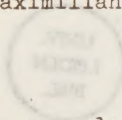
Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551923_0056

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-,
Ohrenkranke der Universität München
Direktor: Prof. Dr. H.H. Naumann

SIMULTANE BESTIMMUNG VON ELEKTROLYTEN,
AMYLASE, GESAMTEIWEISS UND ANTITRYPTI-
SCHER AKTIVITÄT AUS DEM FRAKTIONIERT
GEWONNENEN PAROTISSEKRET

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Wolfgang Bolz

aus

München

Jahr

1975

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. M. Münzel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. H. Naumann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündl. Prüfung: 29. 7. 1975



Diese Arbeit widme ich
meiner lieben Frau
Michaela

Juli 1975

INHALTSVERZEICHNIS:

	Seite
I. Einleitung	1
II. Problemstellung	12
III. Material und Methodik	13
III.1 Elektrolyte	14
III.2 Alpha-Amylase	15
III.3 Gesamteiweiß	17
III.4 Antitryptische Aktivität	18
IV. Ergebnisse	21
IV.1 Flußrate	21
IV.2 Na - Konzentration	24
IV.3 K - Konzentration	29
IV.4 Ca - Konzentration	34
IV.5 Gesamteiweißgehalt	39
IV.6 Alpha-Amylase-Aktivität	44
IV.7 Antitryptische Aktivität	49
V. Diskussion	54
VI. Zusammenfassung	59
VII. Literaturnachweis	61

I. Einleitung

Der Bestimmung verschiedenster Bestandteile menschlichen Speichels wird von medizinischer und zahnmedizinischer Seite immer größeres Interesse entgegengebracht. Neben der praktischen Hilfe für die Diagnostik können auch pathophysiologische Einblicke gewonnen werden, wie sie mit anderen Untersuchungsmethoden am Patienten nicht erzielt werden können.(56)

Die Funktion der großen Kopfspeicheldrüsen des Menschen besteht in der Produktion eines kompliziert zusammengesetzten Sekretes. Namentlich die Sekretion der glandula parotis war in der Vergangenheit Gegenstand eingehender Untersuchungen, da durch eine direkte Kanülierung ihres Ausführungsganges das Sekret relativ leicht isoliert gewonnen werden kann.

Durch einen abgewogenen Gehalt an organischen und anorganischen Bestandteilen hat das Parotissekret mehrere Bedeutungen für den Gesamtorganismus. Einmal besitzt es eine Verdauungsfunktion durch die Bereitstellung bestimmter Verdauungsenzyme und durch die Vorbereitung der aufgenommenen Nahrung. Zum anderen weist es eine protektive Wirkung für die Schleimhaut der Mundhöhle auf. Durch die Bereitstellung bestimmter anorganischer Substanzen wird ihm außerdem noch eine Funktion zur Aufrechterhaltung der Zahnhärte zugeschrieben.

Zur Entstehung des Sekretes der großen Kopfspeicheldrüsen hat THAYSEN 1954 seine zwischenzeitlich weitgehend gerade an der glandula parotis tierexperimentell

belegte Theorie formuliert. Danach erfolgt die Speichelbildung in zwei Schritten. Im ersten Schritt wird in den Speicheldrüsen ein Primärsekret gebildet, dessen Elektrolytzusammensetzung etwa dem des Plasmas isoton ist. In einem zweiten Schritt wird dann während der Passage des Primärsekretes durch das Ausführungsgangsystem die Elektrolytzusammensetzung namentlich durch Rückresorption von Natrium modifiziert. Durch Mikropunktionsuntersuchungen der verschiedenen Gangsegmente sowie durch die Mikroperfusion verschiedener Anteile des Ausführungsgangsystems zeigte es sich mittlerweile, daß diese THAYSEN'sche Theorie prinzipiell zur Erklärung der Speichelsekretion ausreicht. Dies gilt allerdings im wesentlichen für die anorganischen Bestandteile des Speichelsekretes, der Konzentrationsverlauf organischer Bestandteile kann mit dieser Theorie nicht untersucht bzw. geklärt werden. (47)

Diese von THAYSEN formulierte Theorie gab den Anstoß für eine Reihe von experimentellen Untersuchungen, die schließlich auch zu klinisch relevanten Ergebnissen hinsichtlich der Elektrolytzusammensetzung des menschlichen Parotissekretes führten. (HEIDLAND, KREUSSER usw. 25, 32, 33)

Die Kenntnisse über die Sekretionsprozesse im Acinusbereich sind gegenwärtig noch relativ gering. Nach elektrophysiologischen Untersuchungen (BURGEN 4, 5, 6, 7, 8) scheint es, als ob das Wasser des Speichels durch aktive Prozesse in den Azini sekundär zum Elektrolyttransport sezerniert wird. Vereinzelt wurden elektrochemische Veränderungen in den Azinuszellen

während der Aktivität gefunden, jedoch läßt dies noch keine Interpretation bezüglich eines Ionen-transportes zu. In einigen Drüsen hat das Primärsekret möglicherweise eine ähnliche Zusammensetzung wie das Plasma oder nimmt möglicherweise eine ähnliche Zusammensetzung an. Weitere Veränderungen der Speichelzusammensetzung sind das Ergebnis aktiven Transportes oder passiver Angleichung in den Speicheldrüsenengängen.

KEMPFFLE (30) machte den Vorschlag, analog zur Nieren-Clearance für alle Speicheluntersuchungen eine "Speichel-Clearance" einzuführen. Es sollte dafür folgende Formel gelten:

$$\text{Clearance} = \frac{\text{Volumen (SP)} \times \text{Konzentration (SP)}}{\text{Konzentration (PL)}}$$

- V.(SP) = Speichelvolumen/min
- K.(SP) = Konzentration der Testsubstanz im Speichel
- K.(PL) = Konzentration der Testsubstanz im Plasma

Er stellte hierbei die Frage: "Ob man einerseits mit Hilfe der Clearance Aussagen über die Funktionstüchtigkeit des Drüsenparenchyms machen kann und sie somit zur Diagnostik von Speicheldrüsenerkrankungen heranziehen kann und andererseits, ob mit ihrer Hilfe die Durchblutung der Drüsen zu bestimmen ist."

Bereits 1916 hatte LASHLEY den reflektorischen Speichelfluß der menschlichen Parotisdrüse untersucht und unter anderem den Kauakt, den Reiz auf die homolaterale Mundschleimhaut, chemische Stimulantien, Speise im Magen, geistige Arbeit, erotische Gefühle als reflexauslösende Reize für die Sekretion genannt. (35)

RAUCH hat in seiner umfassenden Arbeit über die großen Speicheldrüsen des Menschen zum Problem der "Normalwerte" Stellung genommen: "Die Fragwürdigkeit der "Normal"-Werte wurde schon des öfteren diskutiert (WARMING-LARSEN, 1952; WHITE et al., 1955 u.a.). In der Tat ist jeder Speichelfluß schon Zeichen einer Stimulation, sei sie auch nur zentraler Art. Die Reduktion der Reize auf ein Minimum (konstante äußere Bedingungen: Hospitalisation, gleiches Milieu, gleiche Kost, nüchtern, durch wiederholten Kontakt Verminderung psychischer Einflüsse usw.) bieten die besten Konditionen, eine einigermaßen standardisierte Bezugsbasis zu gewinnen." (39,40)

Es zeigte sich jedoch, daß diese von RAUCH angegebene standardisierte Bezugsbasis alleine nicht genügte um Normalwerte zu finden. Die einmalig gewonnenen Speichelproben und die nicht oder nur schlecht reproduzierbaren Versuchsbedingungen ließen keine genauen Rückschlüsse auf Zustand und Funktionsfähigkeit der Drüsen oder auf die Ursachen möglicher Abweichungen zu. Andere Parameter mußten gefunden werden, die als reproduzierbare Bezugsbasis dienen konnten.

Die Flußrate als grundlegender Faktor für die Beurteilung aller aus dem Parotissekret gewonnenen Werte trat immer mehr in den Vordergrund.

Bei seinen Untersuchungen über die Sekretionsfähigkeit der gld. parotis fand BO ENFORS (15), daß nach definierter Stimulation (mit Methacholin) reproduzierbare Sekretionsmengen erreicht werden können. Ein Abweichen von den klinischen Normalwerten deutet auf eine pathologische Veränderung der Drüse hin.

Thomas B. WEBER untersuchte die Flußrate der Parotissekretion während konstanter Stimulation. Stimuliert wurde mittels Kaugummikauens über den Zeitraum einer Stunde. Es war möglich, bei einem bestimmten Individuum die Flußrate vorauszusagen (in 15-Minuten-Intervallen). WEBER fand keine Ermüdung der Drüsen während der Versuchsdauer. (49)

Horst HANSON hat den Begriff "Ruhespeichel" relativiert, indem er nachwies, daß bereits ohne jeden exogenen Reiz individuelle Veranlagung und Stimmungslage die Speichelsekretion beeinflussen. (26)

Die Reduzierung der exogenen Reize war Thema verschiedenster Untersuchungen. So fanden SHANNON et al., daß die Flußrate des unstimulierten Parotissekretes deutlich absank, wenn man dem Probanden jeglichen Lichteinfluß entzog. (45)

VOGT und SEMMAN untersuchten die Beeinflussung der großen Kopfspeicheldrüsen des Menschen durch Tageszeit, Alter und Geschlecht. Starken tageszeitlichen Schwankungen unterlagen demnach die relative Ruhesekretion und die Gesamtproteinkonzentration der gld. parotis. Weiter wurde festgestellt, daß Frauen eine niedrigere Ruhesekretion der Parotisdrüse haben als Männer und einen eiweißreicheren Speichel produzieren. Die relative Ruhesekretion der Parotis geht bei Frauen im Alter zurück. (48)

SCHNEYER et al. erforschten die Flußrate gld. parotis während des Schlafes und sofort nach dem Erwachen sowie während des sogenannten Ruhestadiums. (42) Die Ergebnisse deuten an, daß die gld. parotis nicht spontan

sezerniert, d.h., daß das Parotissekret, das man normalerweise im Labor als "Ruhesekret" bezeichnet, in Wirklichkeit das Ergebnis von stimulierter Drüsenaktivität darstellt. Die großen Unterschiede der Flußraten sind auf die Schwankungen in der Intensität und Häufigkeit der internen Stimulation zurückzuführen.

Diese exogenen Einflüsse verändern mit der Flußrate auch die Zusammensetzung des Parotissekretes. GORE (24) untersuchte den Einfluß kohlehydratreicher oder kohlehydratarmer Diät auf die Kohlehydratkonzentration des Gesamtspeichels und fand eine positive Abhängigkeit. Aber es stellte sich auch heraus, daß sowohl Rauchen, als auch Sprechen, Bewegung der Zunge, der Lippen, der Wangen und körperliche Aktivität die Kohlehydratkonzentration des Speichels verändern.

Mit Schwankungen im Hormonhaushalt des menschlichen Organismus (Menstruationszyklus und Schwangerschaft) ändern sich Elektrolytkonzentration und Gesamteiweißkonzentration im Parotissekret. (36, 38, 44, 48)

FERGUSON et al. fanden bei einer Untersuchung der Schwankungen der Parotissekretion im Ablauf von 24 Stunden, daß die Flußrate einen 24-Stunden-Rhythmus einhielt, während die Konzentration von Elektrolyten, Gesamteiweiß und 17-Hydrosteroiden einen unabhängigen Rhythmus zeigten. (18) Eine weitere Untersuchung ergab, daß die Proteinkonzentration des Parotissekretes am frühen Morgen niedriger war als mittags und nach Stimulation mit verdünnter Zitronensäure anstieg. (19, 20)

Auch DAWES (14) beobachtete die circadiane Rhythmik des menschlichen Speichelflusses und fand, daß der unstimulierte Gesamtspeichel eine deutliche circadiane Rhythmik in Flußrate und Konzentration von Natrium und Chlor zeigte, jedoch Protein, Kalium, Calcium und Phosphate keinen Rhythmus aufwiesen. Das stimulierte Parotissekret zeigte deutlichen circadianen Rhythmus bei der Konzentration von Protein, Natrium, Calcium, Kalium und Chlor, nicht aber von Phosphaten.

Weiterhin kann die Art des Reizes auf die Speicheldrüse eine Veränderung der Sekretzusammensetzung hervorrufen. D. DAWES und G.N. JENKINS (11) untersuchten den Einfluß verschiedener Stimuli auf die Zusammensetzung des Parotis- und Submandibularissekretes. Sie analysierten Calcium, anorganisches Phosphat, Natrium, Kalium, den pH-Wert, Amylase und Protein-Stickstoff. Sie fanden heraus, daß die Konzentration dieser Bestandteile nur von der Flußrate abhängig war und nicht von der Art des Stimulus, dabei ausgenommen die Amylasekonzentration des Parotissekretes, die bei einer Flußrate über 1ml/min nach Gebrauch von salzhaltigen Stimuli anstieg. Dieser Effekt konnte auch von Atropin nicht aufgehoben werden.

Der Zusammenhang zwischen Flußrate, Elektrolytkonzentration, Proteingehalt, Kationenausscheidung, pH-Wert, titrierbarer Alkalität und deren Veränderung bei pathologischen Erscheinungen aufzuklären war das Ziel weiterer Untersuchungen.

DAWES suchte nach dem Einfluß der Flußrate und der Dauer des Reizes auf die Proteinkonzentration des Parotissekretes (12) und auf die Hauptelektrolyte des menschlichen Parotissekretes (13) und fand, daß die Protein-

und Elektrolytkonzentration des stimulierten Parotissekretes sowohl von der Flußrate, als auch von der Länge des Reizes stark beeinflußt wurde.

WINDELER und SHANNON verglichen die Korrelationen der Flußrate des Parotissekretes zu Calcium-, Magnesium- und Gesamtproteinkonzentration und fanden einen positiven Zusammenhang der Flußrate mit Calcium- und Proteinkonzentration.(50) Sie folgerten aus einer Untersuchung mit gebundenem Calcium (51), daß Angaben über gebundenes Calcium ohne Angaben über die Flußrate bedeutungslos sind.

Viele Untersuchungen haben gezeigt, daß sich mit der Drüsenaktivität anorganische und organische Eigenschaften verändern: CARTER et al. verglichen Chlorkonzentration im Parotissekretes von kariesresistenten und kariesanfälligen Probanden und fanden sie deutlich höher in der kariesanfälligen Gruppe (9.). Die gleichen Gruppen dienten ENGLANDER et al. (16) zu Untersuchungen von pH-Wert, titrierbarer Alkalität und Flußrate, jedoch fanden sie keine Unterschiede zwischen kariesanfälligen und kariesresistenten Probanden.

Die Kationenausscheidung der gld. parotis in Abhängigkeit von der Flußrate war Gegenstand einer Arbeit von KNAUF und FRÖMTER (31). Nach Stimulation mit Pilocarpin stieg die Natriumkonzentration in typischer nicht linearer Art und Weise an, wogegen die Kaliumkonzentration absank und konstante Werte erreichte, die wesentlich höher als die Plasmawerte waren.

Die Methodik der fraktionierten Speichelgewinnung wandten KREUSSER et al. bei vergleichenden Untersuchungen

der Flußrate bei terminaler Niereninsuffizienz, bei primärem Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom), beim Bartter- und beim pseudo-Bartter-Syndrom an. (25, 29, 32, 33)

Sie fanden eine deutliche Veränderung der Elektrolytkonzentration im Parotissekret der Urämiker. In der Mehrzahl der Fälle war die Konzentration für Natriumcarbonat und Calcium deutlich erhöht, bei den übrigen stark vermindert. Es fiel jedoch auf, daß im Einzelfall diese drei Elektrolyte stets gleichsinnig erniedrigt oder erhöht waren, was durch einen gemeinsamen Transportmechanismus zu erklären wäre.

Bei ihren Untersuchungen des primären Hyperaldosteronismus sollte das Elektrolyt-Muster des Parotisspeichels eine diagnostische Lücke schließen. Das führende speichelchemische Kennzeichen war eine starke Erniedrigung der flußratenbezogenen Natriumkonzentration, was einer gewaltigen Steigerung der Natrium-Rückresorption unter dem Einfluß des Aldosterons entsprach.

Herausragendes speichelchemisches Symptom des Bartter- und pseudo-Bartter-Syndroms war eine Steigerung der aktiven Kalium-Sekretion, wobei der Normbereich um mehr als das Doppelte überschritten wurde. Die Natrium-Reabsorption verhielt sich unterschiedlich: leicht erniedrigt beim echten Bartter-Syndrom und gering erhöht beim pseudo-Bartter-Syndrom.

ROSE und KERR verglichen die Aminosäuresekretion der Speicheldrüsen von Normalprobanden mit Patienten mit anormalem Calcium-, Phosphor- und Aminosäurestoffwechsel. (41)

CHAUNCEY et al. fanden keinen bemerkenswerten Unterschied in Flußrate, pH-Wert, Kalium und Bi-Carbonat zwischen dem Parotissekret gesunder Kinder und dem von Kindern mit zystischer Fibrose, wogegen Calcium- und Phosphatwerte bei den kranken Kindern deutlich erhöht waren (10), was WOTMAN et al. (53) bestätigten.

WOTMAN et al. fanden einen starken Anstieg des Natrium- und Kaliumgehalts und der Flußrate im Parotissekret bei Patienten mit aldosterinproduzierenden Tumoren. Wurde der Aldosteronismus nicht chirurgisch behandelt, konnte keine Veränderung in den Speichелеlektrolyten gefunden werden. Sie folgerten daraus, daß man die Untersuchung der Speichелеlektrolyte nicht nur als diagnostisches Hilfsmittel, sondern auch als frühen Index für die Prognose dieser Krankheit verwenden kann. (55)

WOTMAN et al. versuchten auch eine mögliche Digitalisintoxikation aus den Speichелеlektrolyten diagnostizieren zu können. Sie fanden, daß man durch die Bestimmung der Kaliumkonzentration im Gesamtspeichel Patienten, die unter Digitalisintoxikation leiden, identifizieren konnte. Wo dies nicht möglich war, ermöglichte das Produkt der Kalium- und Calciumkonzentration die gewünschte Diagnose. (54) Diese Theorie konnte von LANKISH et al. unterstützt werden. (34)

ALBRECHTSEN und THAYSEN suchten ein fibrinolytisches System, ähnlich dem im menschlichen Blut, in der Milch, im Tränendrüsensekret und im Urin, auch im menschlichen Parotissekret. Sie fanden eine kleine, variable Menge von Plasminogenaktivator und große Mengen eines Pro-aktivators für Plasminogene. Plasminogen selbst war nicht vorhanden. Nur in einem Beispiel konnten sie eine Spur eines Antitrypsin-Inhibitors finden. (1)

In Anbetracht dieser vorliegenden, an einem jeweils relativ kleinen Probandengut erhobenen Befunde lag es nahe, in einer Reihe eigener Untersuchungen die biochemischen Parameter des Parotissekretes zu bestimmen und mit den bekannten Werten zu vergleichen.

II. Problemstellung

Es sollte von einem Normalkollektiv (Alter 25 - 40 Jahre) fraktioniert Parotissekret gewonnen werden und folgende Parameter bestimmt werden:

Elektrolyte (Na, K, Ca)
Gesamteiweiß
Amylaseaktivität

Zusätzlich sollte die antitryptische Aktivität des Parotissekretes im Trypsin-Hemmtest bestimmt werden. Es herrscht allgemeine Übereinstimmung, daß die Inhibitoren verschiedene Prozesse im Blut, wie insbesondere die Gerinnung, die Fibrinolyse, die Kinin-Freisetzung und Komplementreaktionen kontrollieren. Deshalb können Veränderungen der Inhibitorenkonzentration von diagnostischer Relevanz sein. Nachdem über die Proteaseninhibitoren im Serum, im Pankreassekret und im Schleimhautsekret gut fundierte Kenntnisse vorliegen, sollte auch das Parotissekret auf Proteaseinhibitoren untersucht werden. (23, 27, 26)

III. Material und Methodik

Das Normalkollektiv bestand aus 20 Probanden im Alter zwischen 25 und 40 Jahren. Die Ergebnisse von 12 Probanden konnten zur Auswertung herangezogen werden. Um möglichst einheitliche Werte zu erreichen, wurden nur Männer in den Versuch mit einbezogen (36, 38, 44, 48). Die Probanden waren sämtlich Patienten der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen - , Ohrenkranke der Universität München, ohne spezifische Erkrankung der gland. parotis. Es konnte daher ein Optimum an standardisierten Umweltbedingungen geschaffen werden. (Hospitalisierung, Ernährung usw. 4, 24, 26, 29, 35, 39, 42, 43)

Die Abnahme des Sekretes erfolgte täglich zwischen 10 und 12 Uhr. Veränderungen, zurückzuführen auf die circadiane Rhythmik der Speichelsekretion (14, 18, 20, 43) konnten somit weitgehend ausgeschlossen werden. Allen Probanden wurde das Sekret im Sitzen abgenommen und zwar in einem wenig frequentierten Nebenraum, um psychischen Einfluß so gut wie möglich auszuschalten. So wurden alle exogenen Reize auf ein Minimum reduziert, um möglichst einheitliche Ausgangssituationen zu schaffen.

Nach Aufsuchen des Parotis-Ausführungsganges mit einer stumpfen Sonde, wurde ein am Ende abgeschrägter Polyäthylenschlauch mit 0,5 mm lichter Weite in den ductus parotideus 2 cm tief eingeführt und fortlaufend das abtropfende Sekret aufgefangen. (Die Gewinnung des Ruhesekretes mittels eines Polyäthylenschläuchleins scheint leicht niedrigere Werte zu ergeben, als die Gewinnung des Parotissekretes mit der Aspirationskapsel nach LASHLEY-DIAMANT.(40))

An Mundwinkel und Kinn des Probanden wurde der Schlauch mit Heftpflaster fixiert und zu den Reagenzgläsern eines Fraktiometers geführt. Der Fraktiometer wurde auf 10-Minuten-Intervalle eingestellt. Gemessen wurde genau 2 Stunden lang, also 12 Fraktionen pro Proband.

Zur Stimulation der Drüsenaktivität wurde Pilocarpin hydrochloricum in Ringer'scher Lösung subcutan injiziert. Dosierung: 5 mg in 1ccm Ringer'scher Lösung zu Beginn des Versuches. Nach einer Stunde, also nach 6 Fraktionen, erfolgte eine weitere Stimulation mit 5 mg Pilocarpin s.c.

Die Untersuchungen der einzelnen Fraktionen wurde im Laboratorium nach folgenden Methoden durchgeführt:

III.1 Elektrolyte: (Natrium, Kalium und Calcium)

Bestimmung im Flammenphotometer Eppendorf nach folgendem Prinzip (17) :

Die zu untersuchenden Speichelproben wurden für die Kalium- und Calciumbestimmungen 1 : 20 und zur Natriumbestimmung 1 : 200 mit destilliertem Wasser verdünnt. Aus der Eppendorf-Standard-Lösung wurden Eichlösungen hergestellt. Die ermittelten Konzentrationswerte der drei Elemente konnten direkt in mval oder mg:100 ml abgelesen werden. Als Brenngase dienten bei der Natrium- und Kaliumbestimmung Propan, bzw. bei der Calciumbestimmung Azetylen.

III.2 Alpha-Amylase

Die Aktivitätsbestimmung erfolgte nach der Arbeitsanweisung zur photometrischen Bestimmung der Alpha-Amylase nach BABSON, TENNEY und MEGRAW (2). Eine Versuchsreihe hatte ergeben, daß das Sekret im Verhältnis 1:5000 verdünnt werden sollte. Alle Lösungen wurden im Doppelversuch hergestellt:

2.1 Substrat:

5,0 ml aqua dest. in ein Fläschen mit Substrat pipettieren und den Inhalt unter kräftigem Schütteln suspendieren.

2.2 Fällungsmittel:

Inhalt des Fläschchens Präzipitant in 50 ml kaltem (bei Zimmertemperatur) 50 %igem Methanol p.a. lösen. (z.B. 25 ml Methanol p.a. plus 25 ml aqua dest.) Die Lösung muß in einer gut verschlossenen braunen Flasche bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden.

2.3 Standard:

3,0 ml aqua dest. in ein Fläschchen Versatol-E pipettieren, 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen lassen und zwischendurch mehrmals schwenken.

Die Bestimmung wurde als Makro-Methode mit 1,5 ml des verdünnten Sekretes durchgeführt.

Arbeitsweise:

	<u>Probe:</u>	<u>Standard:</u>
--	---------------	------------------

In Zentrifugengläser
pipettieren :

<u>Substrat</u>	0,5 ml	0,5 ml
-----------------	--------	--------

Ca. 5 Minuten bei
ca. 37°C vorwärmen:

<u>Patientenserum</u>	0,1 ml	
<u>Versatol-E</u>		0,1 ml

Gut mischen und bei 37°C
genau 10 min inkubieren:

<u>Fällungslösung</u>	2,5 ml	2,5 ml
-----------------------	--------	--------

bei 3.000 - 5.000 U/min
zentrifugieren

Überstand abpipettieren und
bei 540 (546) nm ablesen

Auswertung:

$$\frac{\text{Ext. Probe (Serum)}}{\text{Ext. Versatol-E}} \times \text{Aktiv. Versatol-E} = \text{Amylase Aktivität der Probe}$$

Die Aktivität im Versatol-E wird in Somogyi-Einheiten angegeben.

III.3 Gesamteiweiß

Bestimmung nach der Ninhydrin-Eiweißreaktion:

Es wurden Standard-Reagenzien mit definiertem Eiweißgehalt hergestellt und dem zu untersuchenden Sekret gegenübergestellt. Von Standard und Probe wurden jeweils drei Untersuchungen pro Fraktion unternommen.

0,1 ml Standardreagenz, bzw. 0,02 ml Probeeragenz wurde mit 1,0 ml 2,5 n NaOH versetzt, geschüttelt und 1 Std. in kochendem Wasserbad hydrolisiert. Mit je 1 ml 30% Essigsäure wurde anschließend neutralisiert und 2 ml Ninhydrin dazugegeben und geschüttelt. Nach weiteren 20 min in kochenden Wasserbad wurde mit jeweils 10 ml Propanol verdünnt und die Extinktion von Standard und Probe bei 578 nm im Photometer gemessen.

Als Leerwert diente aqua dest..

Aus dem Vergleich mit der Extinktion der Standardlösungen konnte einfach der Gesamteiweißgehalt der Proben berechnet werden.
(46, 52)

III.4 Antitryptische Aktivität gemessen im Trypsin-Hemmtest

Die Antitryptische Aktivität wurde nach folgender Methode mit N-Benzol-Arginin-p-nitroanilid (BAPNA) als Substrat im Photometer bestimmt (3) :

0,2 ml Trypsin-Lösung, enthaltend 10 mU Enzym, und 1,8 ml eines 0,2 mol Tra-Puffers (pH 7,8) wurden in einer Küvette vermischt. Durch Zugabe von 1 ml BAPNA-Lösung (1 g/l Wasser) wurde folgende Reaktion in Gang gesetzt:

Prinzip:

Die Kinetik dieser enzymatischen Spaltung kann direkt am Photometer durch die Extinktionsveränderung pro Minute bei 405 nm ermittelt werden. Dies ergibt die Extinktionszunahme, die von 10 mU Trypsin bewirkt wird. Durch Zugabe von 0,2 ml unverdünntem Parotissekretes und Verringerung der Pufferlösung um die entsprechende Menge, kann bei gleicher Versuchsanordnung die Hemmung des Parotissekretes in mU (Inhibitoreinheit) gemessen werden.

Arbeitsweise:

	Inhibitor- Ansatz	Trypsin- Vergleichs- Ansatz	Konzentra- tion im Test
In die Küvet- te pipettieren:			
<u>Trypsin-Lösung</u>	0,2 ml	0,2 ml	ca. $3,3 \mu\text{m/ml}$ = ca. $3,3 \text{ U/ml}$
<u>Puffer-Lösung</u>	1,6 ml	1,8 ml	110 mM Tris; 11 mM Ca^{2+}

Probe(Inhibitor) 0,2 ml

mischen, 5 min
vorinkubieren

<u>Substratlösung</u>	1,0 ml	1,0 ml	0,77 mM.
-----------------------	--------	--------	----------

Mischen, 5 min
lang jede min
Extinktion ab-
lesen; besser
mit Schreiber
registrieren.

Auswertung:

1 mU Trypsin entspricht einer Extinktionsänderung von $\Delta E_{405} = 0,003\ 32$ pro min im 1-ml Ansatz. Entsprechend hemmt eine Inhibitormillieinheit (1ImU) für Trypsin den $\Delta E/\text{min}$ Wert um den selben Betrag.

Der Inhibitorgehalt der eingesetzten Probe ist:

$$\frac{(\Delta E/\text{min})_{\text{TR}} - (\Delta E/\text{min})_{\text{I}}}{0,003\ 32} \quad [\text{ImU}]$$

Durch Multiplikation mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor erhält man die Inhibitor-konzentration der untersuchten Inhibitorlösung. So berechnet sich die Inhibitorkonzentration des Parotissekretes nach:

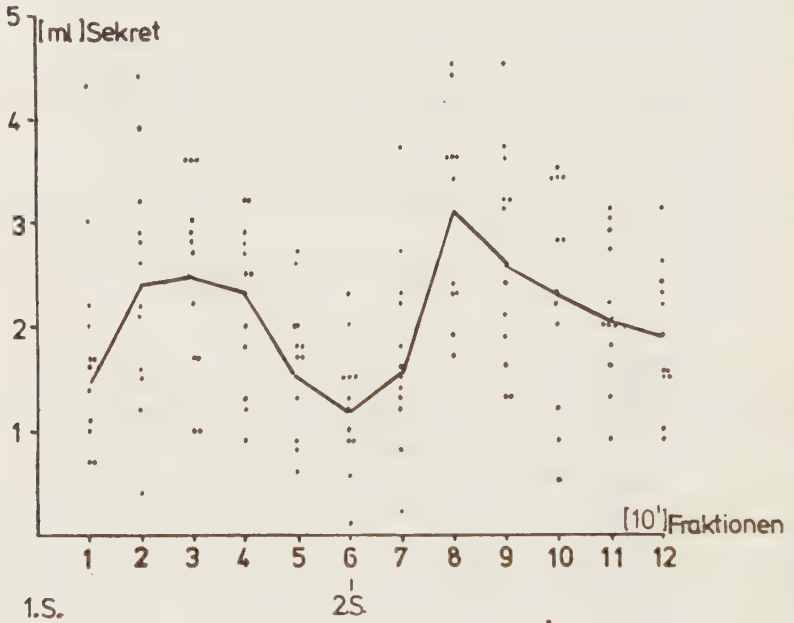
$$\frac{(\Delta E/\text{min})_{\text{TR}} - (\Delta E/\text{min})_{\text{P}}}{0,003\ 32 \times 0,2} \quad [\text{ImU/ml}]$$

IV. Ergebnisse

IV.1 Flußrate [ml/10min]

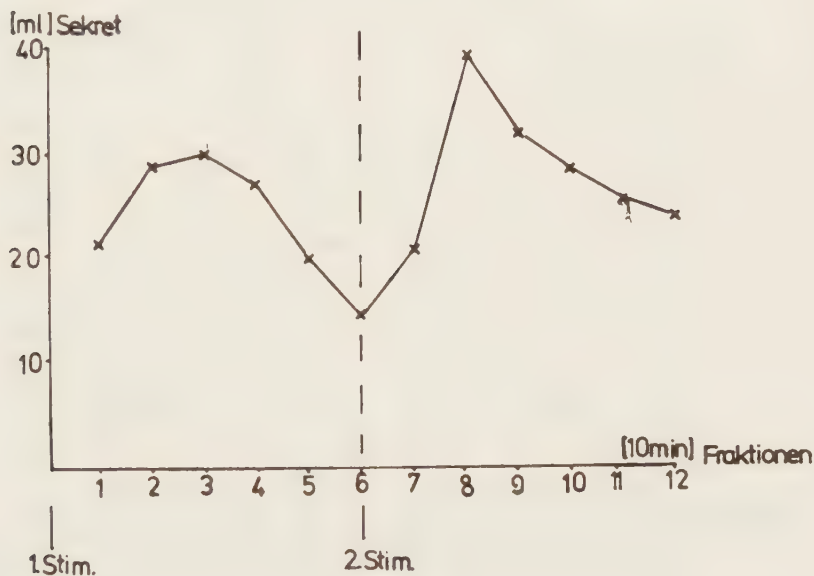
Pro- ben- den	Fraktionen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	4,3	3,9	3,0	2,5	1,8	1,5	1,4	5,6	4,5	3,5	2,0	1,8
2	1,7	1,5	1,0	0,9	0,9	0,1	0,2	3,4	3,2	2,8	2,0	1,8
3	1,6	2,6	3,6	2,7	1,7	1,2	2,3	4,5	3,2	3,4	3,0	2,4
4	2,0	2,8	2,2	2,0	1,8	1,0	0,8	3,6	3,7	2,8	2,7	1,9
5	3,0	4,4	3,6	3,2	2,0	1,5	1,8	4,4	3,6	3,4	2,9	2,6
6	1,0	2,1	3,6	3,2	2,7	2,3	3,7	3,6	3,1	3,4	3,1	3,1
7	2,2	3,2	2,8	2,9	2,0	1,5	2,7	3,6	1,9	2,3	2,0	2,1
8	1,4	1,6	1,7	1,8	1,3	0,9	1,5	2,3	2,1	2,0	2,2	2,2
9	1,1	2,9	2,7	2,8	1,7	1,3	1,6	2,4	2,4	2,2	1,8	1,5
10	0,7	1,2	2,8	2,9	2,6	2,0	2,2	2,3	1,3	0,9	1,6	1,5
11	1,7	2,2	1,7	1,2	0,6	0,9	1,3	1,7	1,6	1,2	1,3	1,0
12	0,7	0,4	1,0	1,3	0,8	0,3	1,2	1,9	1,3	0,5	0,9	0,9

Tabelle 1.1 : Flußrate [ml/10 min]



Tab. 1.1 : Flußrate [ml/10 min] sezernierter Speichel
pro Fraktion, gemessene Werte. Errechneter
Mittelwert eingetragen.

Tabelle 1.2 : Flußrate [ml/10 min]



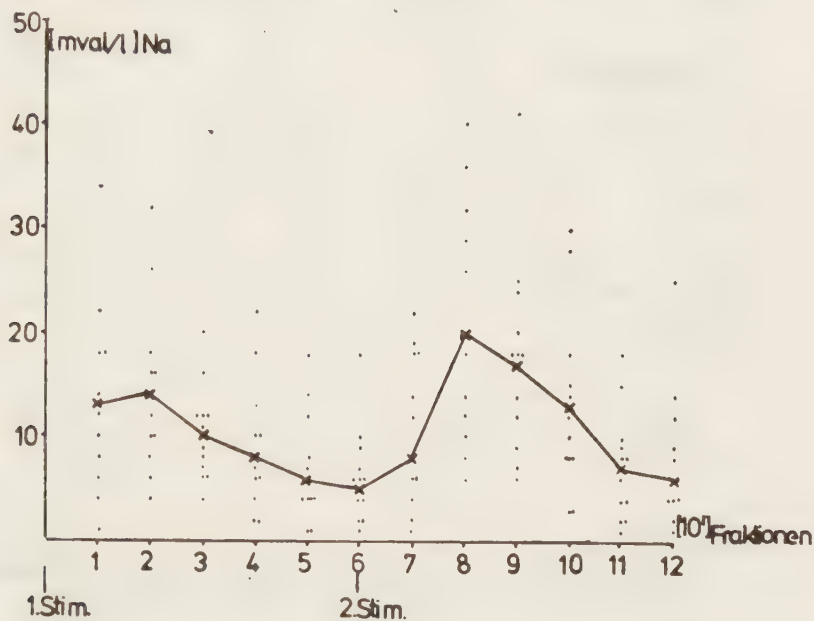
Tab. 1.2 : Flußrate [ml/10] min sezernierter Speichel pro Fraktion über alle Probanden.

Tabelle 1.2 zeigt den durch die Stimulation mit Pilocarpin zu erwartenden Kurvenverlauf: Ansteigen der Flußrate zu Beginn und Absinken der Werte bis zum Tiefstpunkt nach 1h (Stimulationspunkt: Injektion von 5 mg Pilocarpin s.c.) Anschließendes Ansteigen auf den Höchstwert 20 min nach der Injektion, gefolgt von einem Absinken in Richtung auf den Anfangswert. Durchschnittliche Flußrate zu Beginn: 1,8 ml/10 min; am Ende: 1,9 ml/10 min.

VI.2 Na - Konzentration [mval/l]

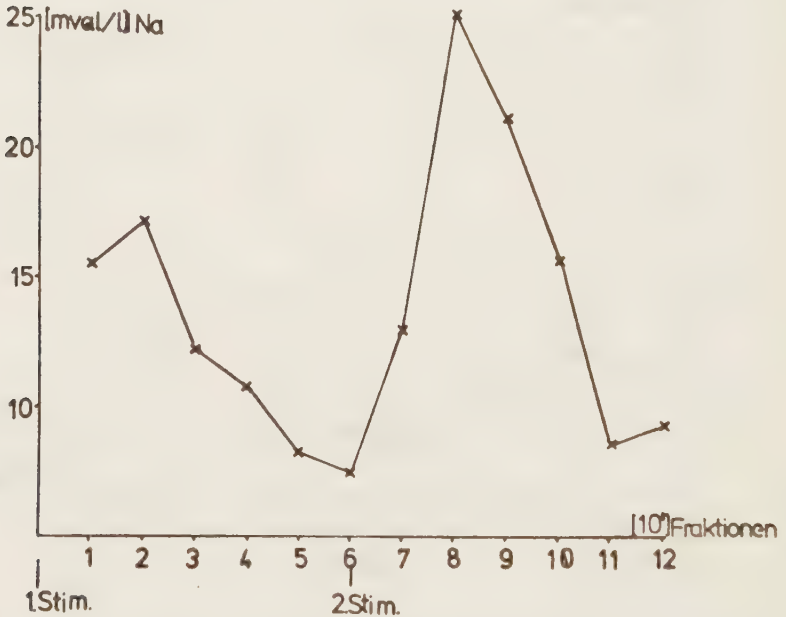
Pro- ban- den	Fraktionen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	22	18	9	6	4	4	6	12	18	10	4	6
2	18	14	11	18	18	18	18	32	24	18	15	12
3	4	4	4	2	1	2	2	8	7	3	2	2
4	34	32	20	13	8	6	23	40	41	30	18	14
5	13	26	16	10	4	2	14	29	18	8	6	4
6	12	10	7	8	7	7	12	10	9	8	9	9
7	8	10	8	6	4	4	18	36	18	8	8	8
8	6	6	6	7	6	6	6	26	25	15	8	6
9	1	8	6	2	1	1	1	6	6	3	1	1
10	13	12	12	10	12	10	8	20	20	14	10	25
11	10	16	12	4	4	9	4	14	14	12	4	4
12	14	16	12	22	14	6	19	18	12	28	2	4

Tabelle 2.1 : Na - Konzentration [mval/l]



Tab. 2.1 : Na-Konzentration [mval/l] pro Fraktion, gemessene Werte. Errechneter Mittelwert eingetragen.

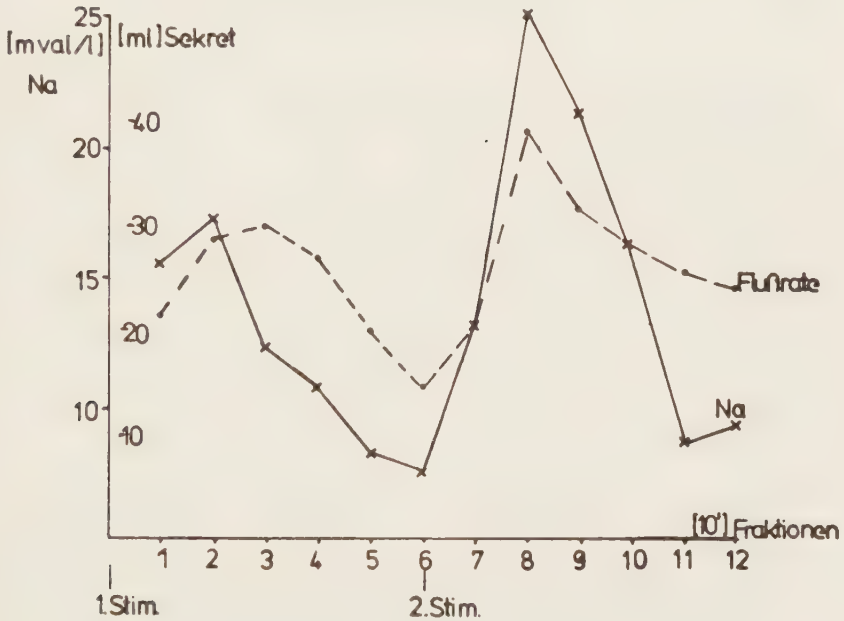
Tabelle 2.2 : Na - Konzentration [mval/l]



Tab. 2.2 : Na-Konzentration [mval/l] pro Fraktion über alle Probanden.

Tabelle 2.2 zeigt: In den ersten 20 min nach Stimulation mit Pilocarpin Anstieg der Na-Konzentration auf einen Summenwert von 172 mval/l. Bis zur weiteren Stimulation nach 1h fällt die Na-Konzentration nahezu linear bis 75 mval/l ab. Der Höchstwert (Summe aller Probanden) wird 20 min nach Pilocarpin-Injektion mit 251 mval/l erreicht. Nach wiederum fast linearem Absinken erreicht die Na-Konzentration zu Versuchsende 94 mval/l, was dem errechneten Durchschnittswert laut Tab. 2.1 von 6 mval/l entspricht.

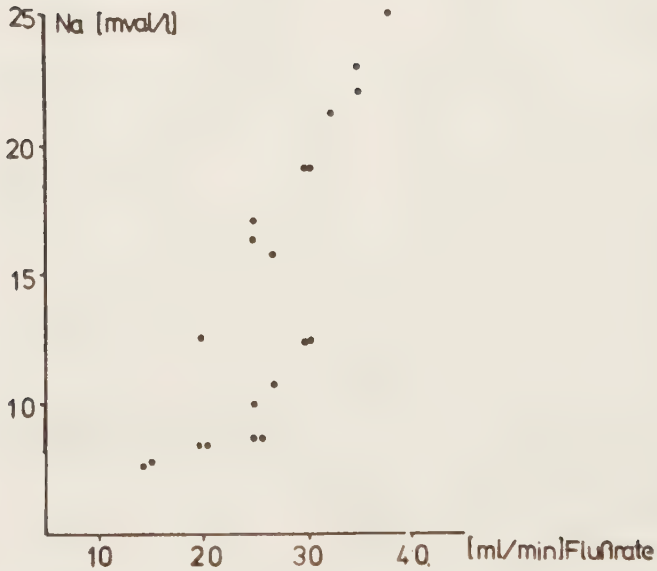
Tabelle 2.3 : Na - Konzentration [mval/l]



Tab. 2.3 : Na-Konzentration [mval/l] pro Fraktion über alle Probanden aufgetragen gegen die Flußrate [ml/10 min] .

Tabelle 2.3 zeigt: Nahezu gleichsinniger Verlauf beider Kurven, d.h. es besteht eine proportionelle Abhängigkeit zwischen der Na-Konzentration des Parotissekretes und der pro min sezernierten Sekretmenge.

Tabelle 2.4 : Na - Konzentration [mval/l]



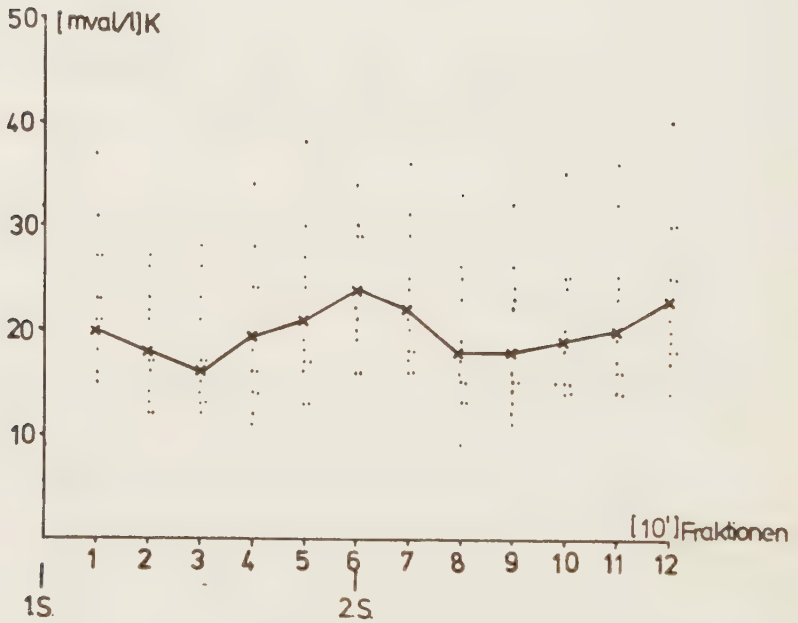
Tab. 2.4 : Na-Konzentration [mval/l] über alle Probanden aufgetragen gegen die Flußrate.

Tabelle 2.4 zeigt: Die Na-Konzentration steigt mit der Flußrate an.

IV.3 K - Konzentration [mval/l]

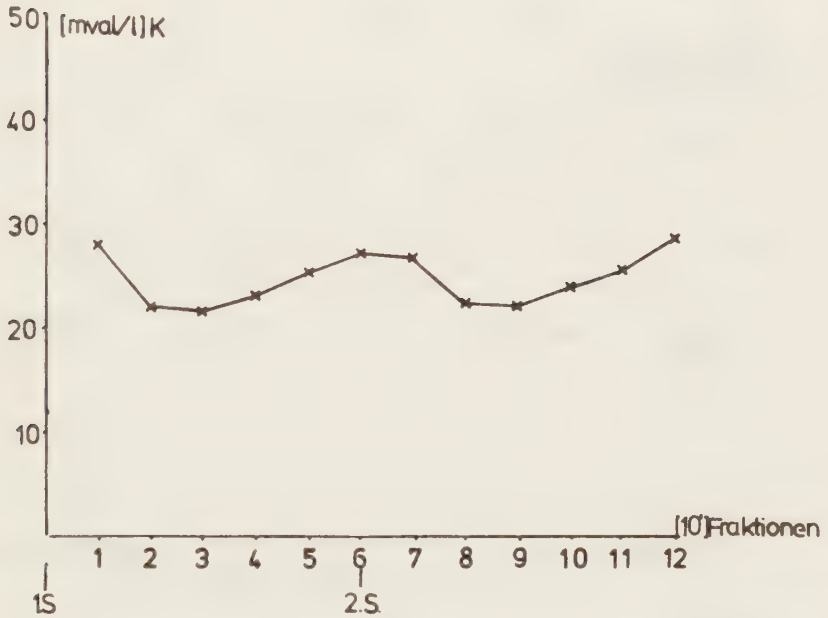
Pro- ban- den	Fraktionen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	27	23	26	28	30	30	31	25	24	25	24	30
2	27	21	23	24	24	24	24	23	23	24	25	25
3	21	16	13	14	18	22	20	15	13	15	16	18
4	18	13	13	14	17	20	16	17	15	15	17	19
5	23	14	16	19	25	29	25	15	15	18	20	25
6	23	17	15	16	16	19	18	13	14	15	16	17
7	16	12	12	12	13	16	17	16	16	14	14	18
8	21	17	17	18	19	21	18	13	12	14	14	14
9	37	26	21	24	27	29	29	26	26	25	27	30
10	20	22	17	16	17	24	21	19	22	20	23	20
11	31	27	28	34	38	34	36	33	32	35	36	40
12	15	12	14	11	13	16	16	9	11	18	19	21

Tabelle 3.1 : K - Konzentration [mval/l]



Tab. 3.1 : K - Konzentration [mval/l] pro Fraktion, gemessene Werte. Errechneter Mittelwert eingetragen.

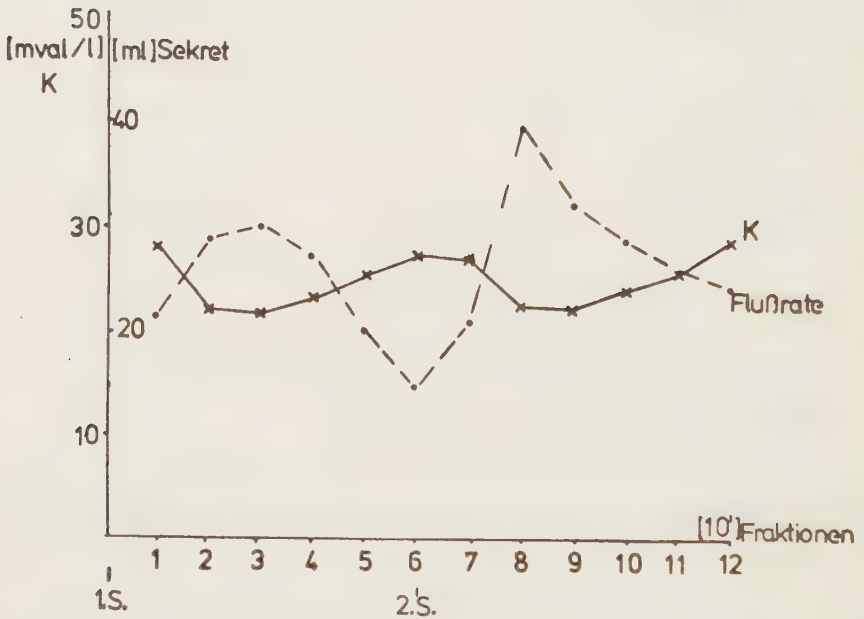
Tabelle 3.2 : K - Konzentration [mval/l]



Tab. 3.2 : K - Konzentration [mval/l] pro Fraktion
über alle Probanden.

Tabelle 3.2 zeigt: Trotz Stimulation mit Pilocarpin bleibt der Summenwert der K-Konzentration annähernd gleich.

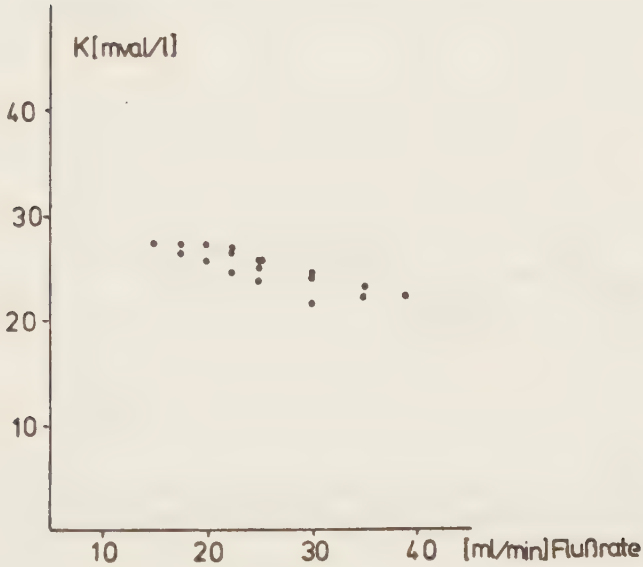
Tabelle 3.3 : K - Konzentration [mval/l]



Tab. 3.3 : K - Konzentration [mval/l] pro Fraktion über alle Probanden aufgetragen gegen die Flußrate [ml/10 min].

Tabelle 3.3 zeigt: Die K-Konzentration wird nicht durch die Flußrate beeinflusst.

Tabelle 3.4 : K - Konzentration [mval/l]



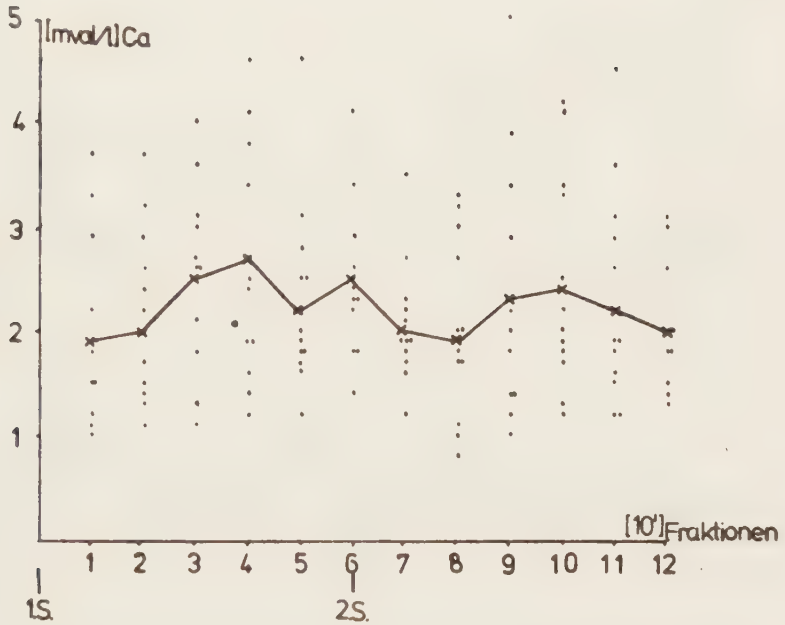
Tab. 3.4 : K - Konzentration [mval/l] über alle Probanden aufgetragen gegen die Flußrate.

Tabelle 3.4 zeigt: Die K-Konzentration bleibt bei ansteigender Flußrate annähernd konstant.

IV.4 Ca - Konzentration [mval/l]

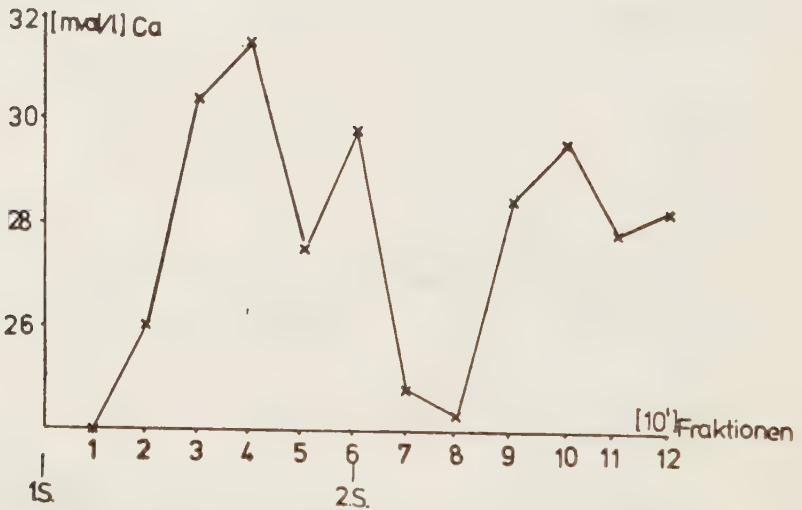
Pro- ban- den	Fraktionen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	3,3	3,2	2,6	2,7	1,8	1,8	2,2	3,0	3,4	4,1	3,6	2,6
2	1,5	1,5	3,0	3,4	1,8	1,8	1,9	1,0	1,0	1,3	1,8	2,0
3	1,0	1,3	1,3	1,4	1,7	2,3	1,9	1,7	1,4	1,8	1,6	1,8
4	1,9	2,9	3,1	2,5	2,0	2,5	2,3	2,0	1,8	2,5	1,9	2,0
5	1,5	2,6	2,5	1,9	1,6	2,9	1,7	2,0	2,2	1,7	1,2	1,8
6	1,9	1,1	1,1	1,2	1,2	1,4	1,2	1,1	1,2	1,2	1,2	1,3
7	2,2	1,4	2,1	1,9	2,5	2,4	2,1	1,8	2,3	1,9	2,6	3,1
8	1,1	2,4	3,6	3,8	2,8	3,4	2,7	2,7	2,9	3,3	3,1	3,0
9	1,2	1,7	1,8	2,4	2,5	2,3	1,9	1,7	2,0	2,0	1,9	1,4
10	2,9	2,2	2,6	4,1	3,1	2,2	1,8	3,2	5,0	3,4	2,9	1,5
11	3,7	3,7	4,0	4,6	4,6	4,2	3,5	3,3	3,9	4,2	4,5	5,7
12	1,8	2,0	2,7	1,6	1,9	2,6	1,6	0,8	1,4	2,2	1,5	2,0

Tabelle 4.1 : Ca - Konzentration [mval/l]



Tab. 4.1 : Ca-Konzentration [mval/l] pro Fraktion
gemessene Werte. Errechneter Mittelwert
eingetragen.

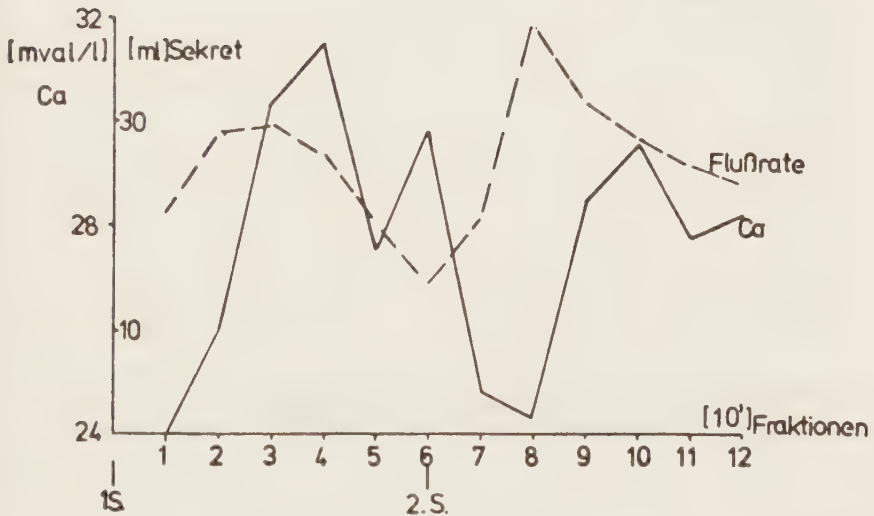
Tabelle 4.2 : Ca - Konzentration [mval/l]



Tab. 4.2 : Ca-Konzentration [mval/l] pro Fraktion über alle Probanden.

Tabelle 4.2 zeigt: Nach fast linearem Anstieg erreicht die Ca-Konzentration 40 min nach der Stimulation einen Summenhöchstwert von 31,5 mval/l, fällt nach 10 min auf 27,5mval/l ab und steigt in der nächsten Fraktion (Zeitpunkt der 2. Stimulation) auf 29,8 mval/l. Ein ähnliches Kurvenverhalten wie zu Beginn des Versuches zeichnet sich nach einem initialen Abfallen ab der 2. Fraktion der 2. Versuchshälfte (8. Fraktion) ab. Die Ca-Konzentration erreicht nach 40 min einen relativen Höchstwert, fällt in der nächsten Fraktion wieder ab, um erneut anzusteigen.

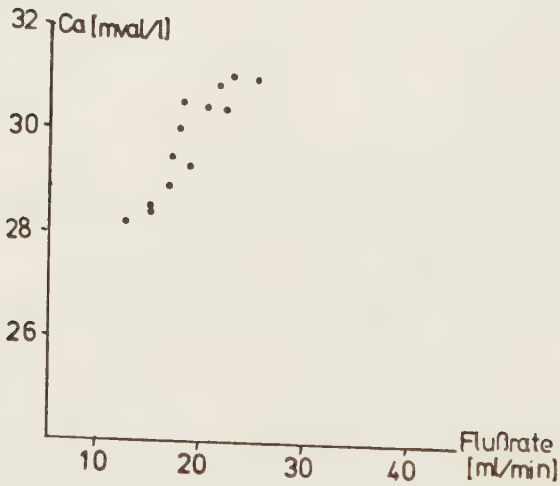
Tabelle 4.3 : Ca - Konzentration [mval/l]



Tab. 4.3 : Ca-Konzentration [mval/l] pro Fraktion über alle Probanden aufgetragen gegen die Flußrate [ml/10 min] .

Tabelle 4.3 zeigt: Eine lineare Abhängigkeit zwischen Flußrate und Ca-Konzentration scheint nicht zu bestehen, obgleich ein um ca. 20 min zeitlich versetzter gleichsinniger Verlauf der beiden Kurven zu erkennen ist.

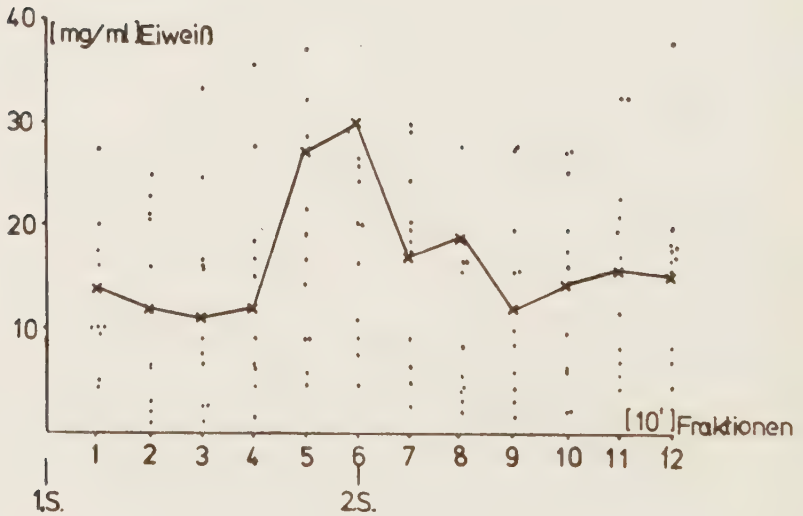
Tabelle 4.4 : Ca - Konzentration [mval/l]



Tab. 4.4 : Ca-Konzentration [mval/l] über alle Probanden aufgetragen gegen die Flußrate.

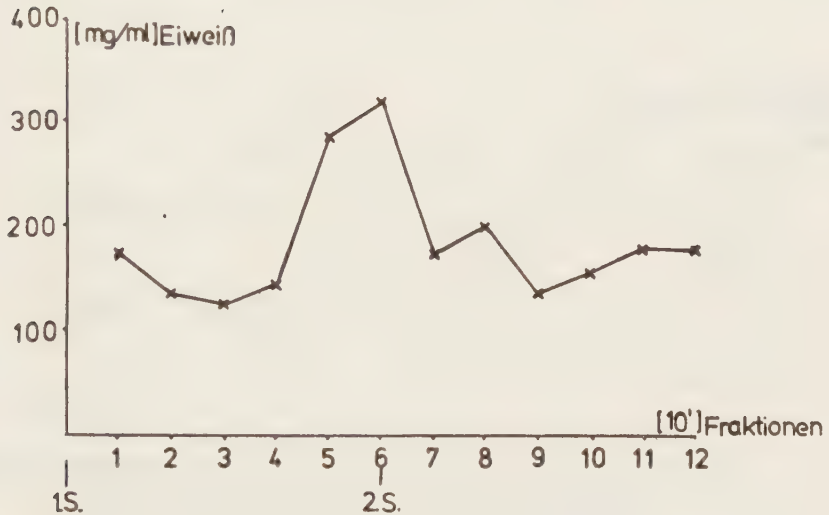
Tabelle 4.4 zeigt: Nach Pilocarpin-Stimulation steigen Ca-Konzentration und Flußrate an.

Tabelle 5.1 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml]



Tab. 5.1 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml] pro Fraktion, gemessene Werte. Errechneter Mittelwert eingetragen.

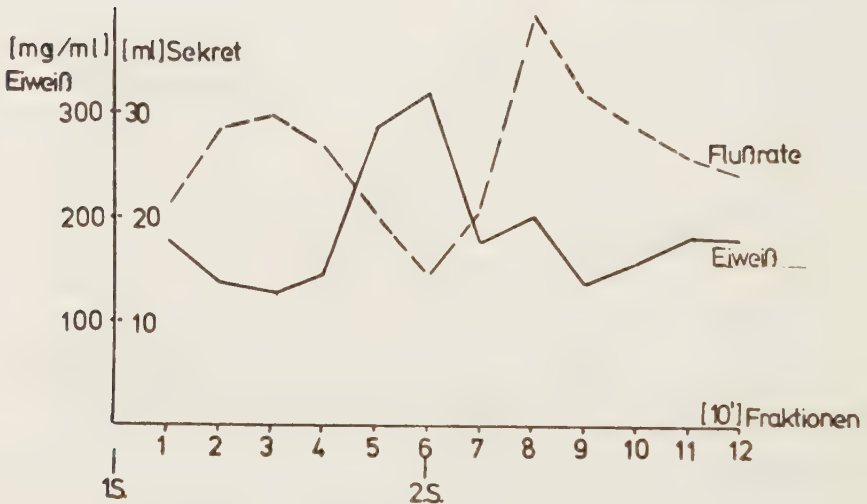
Tabelle 5.2 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml]



Tab. 5.2 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml] pro Fraktion über alle Probanden.

Tab. 5.2 zeigt: Initiales Absinken des Summenwertes auf 135 mg/ml nach 30 min wird gefolgt von einem Ansteigen auf den Höchstwert nach 1h (Zeitpunkt der 2. Stimulation). Nach der 2. Pilocarpin-Injektion wird nahezu der Tiefstwert der ersten Versuchshälfte von 137 mg/ml erreicht. Nach 2h wird wieder der Ausgangswert angestrebt.

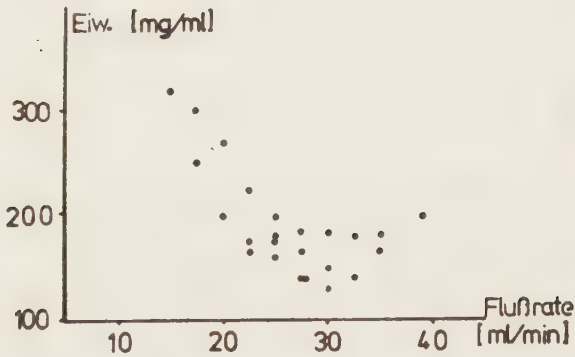
Tabelle 5.3 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml]



Tab. 5.3 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml] pro Fraktion über alle Probanden, aufgetragen gegen die Flußrate [ml/10 min]

Tabelle 5.3 zeigt: Annähernd gegensinniger Verlauf bei-
der Kurven. Während die Flußrate nach 1h ihren Tiefst-
wert erreicht hat, ist der Eiweißgehalt an seinem Höchst-
wert angekommen. Beide Kurven streben am Ende ihren Aus-
gangswerten zu.

Tabelle 5.4 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml]



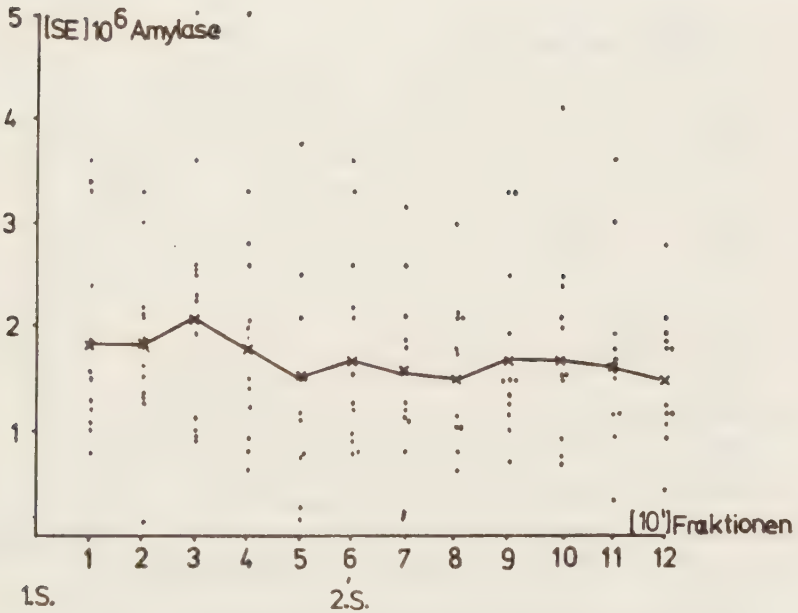
Tab. 5.4 : Gesamteiweißgehalt [mg/ml] über alle Probanden, aufgetragen gegen die Flußrate.

Tabelle 5.4 zeigt: Mit ansteigender Flußrate fällt der Gesamteiweißgehalt ab und zeigt die Tendenz einen konstanten Wert anzustreben.

IV.6 Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten x 10⁶]

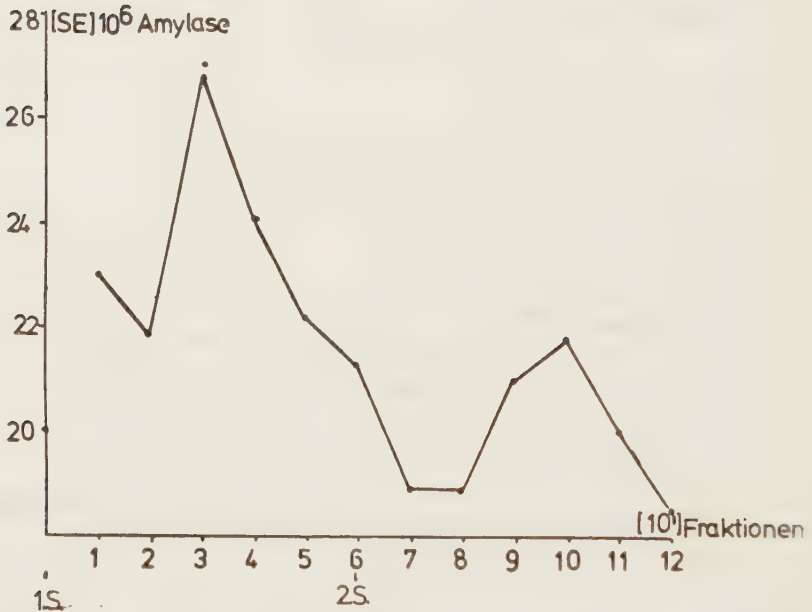
Pro- ban- den	Fraktionen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1,58	1,27	2,30	2,08	1,52	2,20	1,27	1,76	1,96	1,72	1,72	1,96
2	3,30	3,30	2,60	2,60	2,50	2,60	2,60	1,80	1,50	4,10	3,30	2,10
3	1,00	1,38	2,25	1,50	0,28	0,99	1,80	0,63	1,18	0,79	0,35	2,80
4	1,31	3,00	5,00	5,00	6,60	3,60	3,16	3,50	1,50	2,50	0,95	1,80
5	1,50	1,53	1,01	0,64	0,78	0,78	1,12	1,06	1,01	2,00	1,56	0,46
6	0,81	0,14	0,92	0,81	0,75	3,30	1,14	1,14	1,38	1,50	1,19	1,19
7	1,08	1,34	1,23	1,23	1,50	1,20	0,82	0,82	1,50	1,54	1,64	1,08
8	3,60	2,10	3,60	3,30	2,10	2,10	1,60	2,10	3,30	2,10	1,80	1,80
9	3,40	2,13	2,50	2,82	1,12	1,26	1,89	2,13	1,26	1,56	1,50	1,26
10	1,89	1,89	2,50	0,94	3,75	1,56	2,13	1,06	2,50	0,94	3,63	0,94
11	2,40	2,20	1,94	1,80	0,15	0,90	1,20	1,50	3,30	2,40	1,94	1,88
12	1,20	1,64	0,94	1,41	1,19	0,80	0,24	2,10	0,70	0,70	1,19	1,19

Tabelle 6.1 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten]



Tab. 6.1 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten]
pro Fraktion, Gemessene Werte. Errechneter
Mittelwert eingetragen.

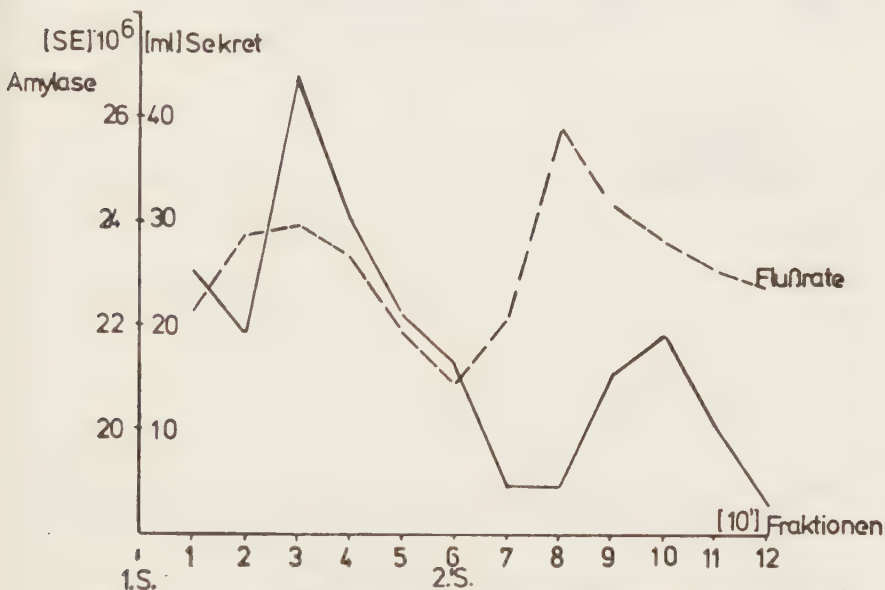
Tabelle 6.2 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten]



Tab. 6.2 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten]
pro Fraktion, über alle Probanden.

Tabelle 6.2 zeigt: 20 min nach der Injektion von Pilocarpin steigt die Aktivität der Alpha-Amylase auf den gemessenen Höchstwert an, um anschließend wieder fast linear abzufallen. Erst wieder 20 min nach der 2. Stimulation erfolgt ein erneuter Anstieg. Danach sinkt die Aktivität wieder linear ab.

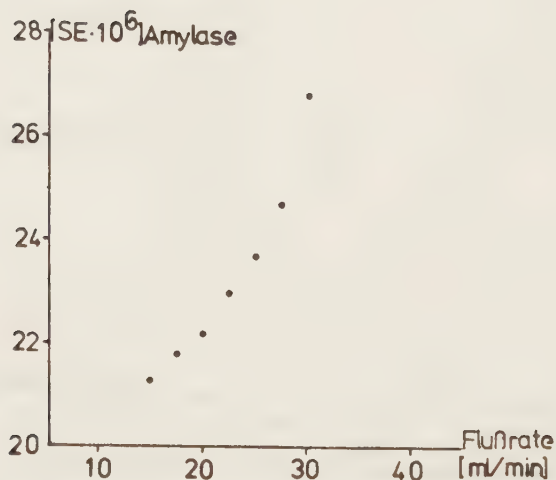
Tabelle 6.3 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten]



Tab. 6.3 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten] pro Fraktion über alle Probanden, aufgetragen gegen die Flußrate [ml/10min] .

Tabelle 6.3 zeigt: Nahezu gleichsinniger Verlauf beider Kurven, d.h. das Abfallen der Flußrate ist gefolgt von einem Absinken der Amylase-Aktivität und umgekehrt. In der 2. Versuchshälfte, nach Stimulation mit Pilocarpin ist dieser Vorgang jedoch um 20 min zeitlich verschoben.

Tabelle 6.4 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten]



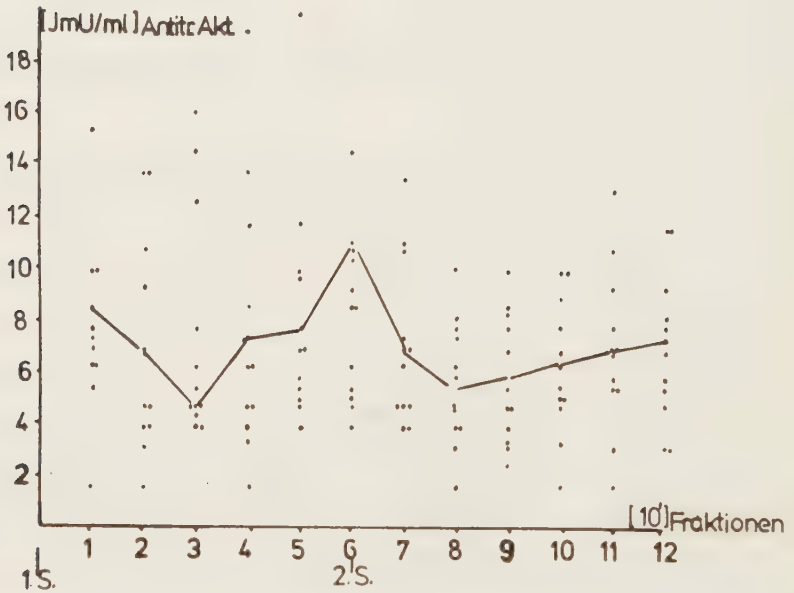
Tab. 6.4 : Alpha-Amylase-Aktivität [Somogyi-Einheiten] über alle Probanden, aufgetragen gegen die Flußrate.

Tabelle 6.4 zeigt: Nach Stimulation mit Pilocarpin steigen Flußrate und Amylase-Konzentration an.

IV.7 Antitryptische Aktivität gemessen
im Trypsin-Hemmtest [ImU/ml]

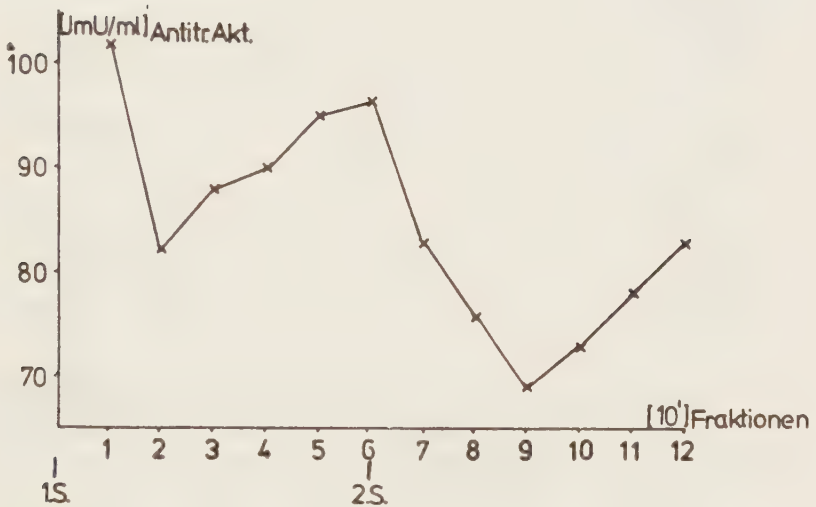
Pro- ban- den	Fraktionen											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	6,0	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	4,6	4,5	4,6	4,9	5,3	5,3
2	15,2	13,6	15,9	19,0	19,7	10,9	10,9	7,6	8,4	9,8	10,6	11,4
3	5,3	9,1	4,2	7,2	9,5	10,2	6,8	5,7	4,6	7,6	7,6	8,0
4	18,9	10,6	12,5	11,7	11,6	10,6	13,2	9,9	7,6	8,7	6,8	7,2
5	6,0	3,0	5,3	3,2	4,6	8,4	6,0	3,0	3,0	1,5	1,5	3,0
6	1,5	1,5	4,6	1,5	5,3	4,6	3,8	1,5	2,3	3,2	3,0	3,0
7	9,8	4,6	4,6	6,1	6,8	9,1	6,8	3,8	3,2	4,6	9,1	9,1
8	9,8	13,6	14,4	13,6	9,8	14,4	10,6	8,0	9,8	9,8	12,9	11,4
9	8,4	4,6	3,8	4,6	6,8	6,1	4,6	6,1	5,3	6,1	6,8	7,6
10	7,6	6,8	6,1	4,6	5,7	5,3	7,2	7,2	8,1	4,9	5,7	5,7
11	6,8	3,8	4,6	6,1	4,9	4,9	4,6	4,6	3,8	5,3	5,3	4,6
12	7,2	5,7	7,6	8,4	7,6	8,4	3,8	3,8	6,7	6,7	6,7	6,7

Tabelle 7.1 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml]



Tab. 7.1 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml]
pro Fraktion, gemessene Werte. Errechner Mittelwert eingetragen.

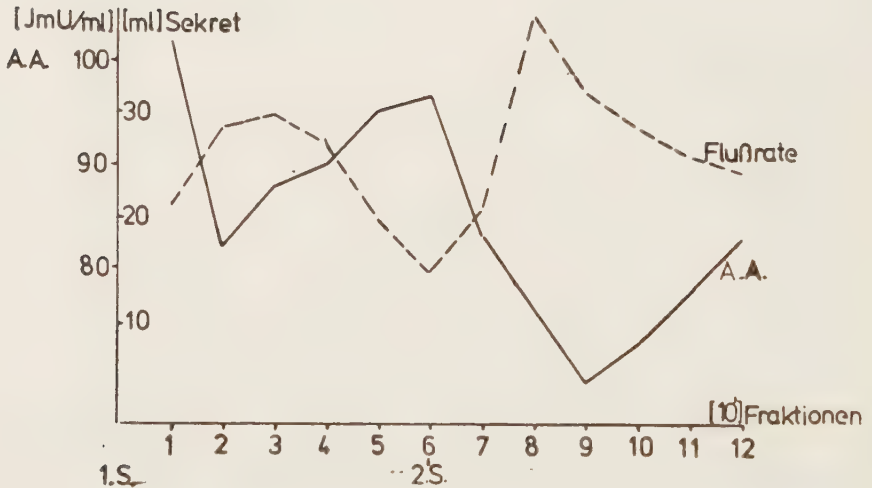
Tabelle 7.2 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml]



Tab. 7.2 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml]
pro Fraktion über alle Probanden.

Tabelle 7.2 zeigt: Das anfängliche Absinken der Aktivität ist nach 20 min gefolgt von einem fast linearen Ansteigen auf einen Summenwert von 96,6 ImU/ml , der nach 1h erreicht wird. In der 2. Versuchshälfte nach der 2. Stimulation zeigt die Kurve ein ähnliches Verhalten.

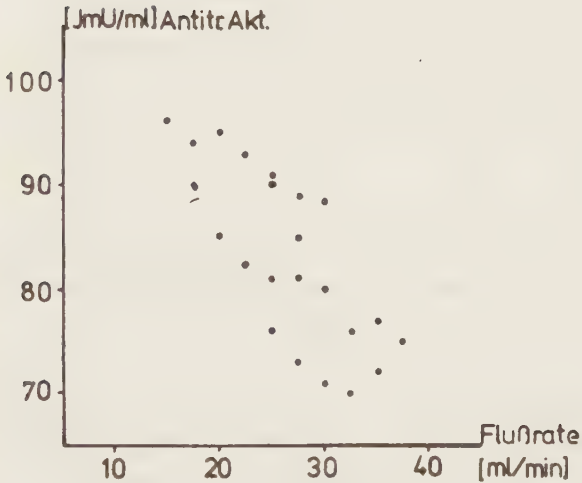
Tabelle 7.3 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml]



Tab. 7.3 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml] pro Fraktion, über alle Probanden, aufgetragen gegen die Flußrate [ml/10 min] .

Tabelle 7.3 zeigt: Beide Kurven verhalten sich gegenläufig; d.h. während die Flußrate steigt, sinkt die antitryptische Aktivität und umgekehrt.

Tabelle 7.4: Antitryptische Aktivität [ImU/ml]



Tab. 7.4 : Antitryptische Aktivität [ImU/ml] über alle Probanden, aufgetragen gegen die Flußrate.

Tabelle 7.4 zeigt: Mit ansteigender Flußrate fällt die antitryptische Aktivität ab.

V. Diskussion

Menschliches Parotissekret wurde schon von einer Reihe von Arbeitsgruppen analysiert und charakterisiert. Auch sie benutzten als Vergleichsparameter hauptsächlich Flußrate, Elektrolyt- und Eiweißbestimmung im Sekret. Dabei stellte sich übereinstimmend heraus, daß die Sekretzusammensetzung vom Reizzustand der Drüse, vom Alter der Patienten und von circadianen Schwankungen abhängig ist. (4, 14, 18, 20, 24, 29, 35, 36, 38, 39 42, 43, 44, 48)

Namentlich an den Werten der Proteinkonzentration zeigte sich auch, daß die Art der Bestimmungsmethode die Ergebnisse stark beeinflußt (46). Je nach Methodik der Arbeitsbestimmung schwanken die Ergebnisse bei gleichen Sekreten bis um den vierfachen Wert.

Insofern soll die vorliegende Arbeit zusätzliche Angaben über bestimmte Parameter der Sekretion des Parotissekretes bieten. An einem Probandengut einer einheitlichen Altersgruppe sollten mit standardisierten Arbeitsmethoden wichtige Parameter der Parotissekretion erneut untersucht werden. Zu der Standardisierung der Abnahmemethode zählte neben der direkten Kanülierung zu selben Tageszeit (vormittags zwischen 10 und 12 Uhr) eine einheitliche Stimulation mit Pilocarpin-Hydrochloricum nach vorheriger Kollektion des Ruhesekretes. Übereinstimmend mit anderen Autoren fanden sich annähernd gleich große Sekretionsraten der Ruhesekretion. Nach Pilocarpin-Reiz fand sich stets eine deutliche Sekretionssteigerung.

Die Elektrolytbestimmungen in Reiz- und Ruhesekretion zeigten folgende Ergebnisse: Parallel zur Flußratensteigerung nahm auch die Natriumkonzentration des Sekretes zu. Die Kaliumkonzentration im Speichelsekret wurde nach Pilocarpinstimulation bei allen Probanden nicht beeinflußt. Die bezüglich der Elektrolyte gewonnenen Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit aus der Literatur bekannten Angaben überein. Wichtig erscheint hierbei, daß sich bezüglich der Natriumsekretion eine deutliche Abhängigkeit zwischen Flußrate und Natriumkonzentration ergibt. Die von HEIDLAND, KREUSSER und WIGAND gemachten Beobachtungen werden durch dieses Normalkollektiv bestätigt. Auch hinsichtlich der übrigen Elektrolyte wie Calcium und Kalium fanden sich übereinstimmende Ergebnisse.

Eine zusätzliche Information bietet die vorliegende Untersuchungsreihe insofern, als über einen wesentlich längeren Zeitraum fortlaufende Untersuchungen angestellt wurden. Weiterhin ist die Beobachtung neu, daß nach einer zweiten Stimulation ein erneuter, wenn auch kürzer andauernder Anstieg der Elektrolytkonzentration zu beobachten ist. Das absolute Verhalten von Natrium und Kalium bringen eine weitere Bestätigung des Sekretionsmechanismus in der Ohrspeicheldrüse. Danach darf angenommen werden, daß die tierexperimentell gefundenen Ergebnisse bezüglich der Rückresorption bzw. Sekretion von Natrium und Kalium auch auf den Menschen übertragbar sind.

Auch bezüglich der Calciumsekretion scheinen ähnliche Mechanismen abzulaufen. Diese sind allerdings bis heute von Seiten der Grundlagenforschung noch nicht ganz auf-

geklärt. Es verdient aber festgehalten zu werden, daß unter Stimulation mit Pilocarpin-Hydrochloricum die Calciumkonzentration im Parotissekret zusammen mit der Flußrate einen fast linearen Anstieg zeigt. Die Tatsache, daß nach einer zweiten Stimulation innerhalb eines relativ kurzen Zeitraums ein erneuter Anstieg in der Sekretion der Elektrolyte eintritt, weist darauf hin, daß das im Ausführungssystem lokalisierte Transportsystem eine hohe Kapazität aufweist. Ähnliche von BURGEN und SCHNEYER in Tierexperimenten an der gld. submandibularis der Ratte erhobene Befunde können somit auch auf die menschliche Ohrspeicheldrüse übernommen werden. (4, 5, 7, 8, 42)

In Übereinstimmung mit Mitteilungen aus der Literatur zeigte sich, daß das Verhalten der Proteinkonzentrationen im Bezug zur Flußrate anderen Gesetzen gehorcht, als die Elektrolytzusammensetzung. Nach den vorliegenden Ergebnissen scheint die Sekretion der Proteine durch eine starke Stimulation im Laufe der Zeit deutlich vermindert zu werden. Mit ansteigender Flußrate bildet sich ein Abfall der Proteinkonzentration, die nach etwa 30 bis 40 Minuten einen konstanten, im Vergleich zum Ausgangswert deutlich erniedrigten Wert aufweist. Diskelektrophoretische Untersuchungen (MÜNZEL, EICHNER 37) haben zwischenzeitlich gezeigt, daß es sich bei den Proteinen im Ohrspeicheldrüsensekret um eine sehr heterogene, aus vielen Komponenten zusammengesetzte Eiweißgruppe handelt. Es kommt danach bei Zunahme der Flußrate zwar zu einem nur geringen Abfall der Gesamtproteinkonzentration, innerhalb der Proteine treten unter Stimulation allerdings deutliche Verschiebungen auf.

Bei der Bestimmung einzelner Proteinanteile zeigte namentlich die Amylasekonzentration einen Anstieg bei Pilocarpin-Stimulation. Die bekannteste und wohl auch wesentlichste Eiweißgruppe im Parotissekret, die Alpha-amylase, ist nach neueren Untersuchungen eine genetisch determinierte Gruppe von Iso-Enzymen. In Übereinstimmung mit FLEURY et al. (21, 22) fanden wir Amylasekonzentrationen in einer Größenordnung von 100 000 bis 2 000 000 Somogyi-Einheiten. Unter Stimulation stieg die Aktivität der Alpha-Amylase zunächst an, um dann einen relativ starken Abfall zu zeigen. Bei der zweiten Stimulation fand sich zwar ebenfalls ein Anstieg, dieser war aber deutlich geringer als nach der ersten Stimulation. Allerdings liegt die Alpha-Amylasekonzentration des stimulierten Sekretes immer etwas über der Ruhesekretkonzentration.

Die Produktion der Alpha-Amylase scheint also nach längerem Reiz in gewissen Grenzen ermüdbar, zumindest für die ersten 40 Minuten findet sich aber ein fast paralleler Anstieg von Flußrate und Amylasekonzentration.

Über die antitryptische Aktivität gemessen im Trypsin-Hemmtest im isoliert gewonnenen Parotissekret existieren, unseres Wissens, noch keine Mitteilungen. Die antitryptische Aktivität zeigt ein umgekehrtes Verhalten zum Verlauf der Flußrate. Mit ansteigender Flußrate fällt sie deutlich ab. Ähnliche Untersuchungen, namentlich unter Berücksichtigung der Flußrate und unter konstanter Stimulation wurden hinsichtlich der antitryptischen Aktivität bisher beim Menschen nicht durchgeführt. Dementsprechend liegen derzeit auch noch keine genauen

Kenntnisse über die Natur der antitryptischen Aktivität vor. Es handelt sich dabei um Proteaseinhibitoren, die die beim Zerfall von Leukozyten freigesetzten Proteasen hemmen und deshalb als Parameter für die Abwehrkraft des Sekretes gelten können.

Nach dem zwischenzeitlich von HOCHSTRASSER et al. (27,28) festgestellt wurde, daß im Nasen- und Bronchialsekret zumindest zwei Proteaseinhibitoren vorhanden sind, stellt sich die Frage, ob es sich bei der antitryptischen Aktivität des Parotissekretes um einen einheitlichen Inhibitor handelt, oder ob auch hier mehrere unterschiedliche Inhibitoren existieren.

Es wird Aufgabe zukünftiger Forschungen sein, darüber Klarheit zu schaffen.

VI. Zusammenfassung

An einem einheitlichen Probandengut sollten unter standardisierten Abnahmebedingungen folgende Parameter des isoliert gewonnenen menschlichen Parotissekretes bestimmt werden: Flußrate, Elektrolyte (Na, K, Ca) , Gesamteiweiß, Alpha-Amylase.

Zusätzlich sollte das flußratenbezogene Verhalten der anitryptischen Aktivität des Parotissekretes im Trypsin-Hemmtest untersucht werden.

Die Speichelgewinnung erstreckte sich über einen Zeitraum von zwei Stunden, eingeteilt in 12 Fraktionen à 10 Minuten. Die Stimulation erfolgte einheitlich mit Pilocarpin-Hydrochloricum subcutan zu Beginn des Versuches und nach genau 1 Stunde. Damit konnten optimal standardisierte Versuchsbedingungen geschaffen werden.

Die Ergebnisse bestätigten die Angaben aus der Literatur und zeigten für die Natriumkonzentration einen parallelen Anstieg mit der Flußrate.

Die Werte lagen zwischen 8 und 20 mval/l.

Die Kaliumkonzentration wurde von der Flußrate nicht beeinflusst.

Die Werte lagen um 20 mval/l.

Die Calciumkonzentration dagegen stieg nach Pilocarpin-Stimulation deutlich an und zeigte Werte, die zwischen 2 und 3 mval/l lagen.

Je nach Zustand der Drüse (Stimulationsgrad) lagen die Werte für das Gesamteiweiß zwischen 10 und 30 mg/ml und zeigten ein zur Flußrate umgekehrtes Verhalten.

Demgegenüber steig die Konzentration der Alpha-Amylase mit zunehmender Flußrate an und zeigte Werte zwischen 10^5 und 10^6 Somogyi-Einheiten.

Die antitryptische Aktivität wurde mittels Trypsin-Hemmtest in ImU/ml gemessen und ergab Werte zwischen 3 und 12 ImU/ml, sie zeigte ein umgekehrtes Verhalten zum Verlauf der Flußrate.

Diese Ergebnisse werden diskutiert.

VII. Literaturnachweis

- 1 ALBRECHTSEN, O.K. und J.H. THAYSEN
Fibrinolytic activity in human saliva
Acta physiol.scand. 35 (1955) 138-142
- 2 BABSON, A.L., S. TENNEY und R. MEGRAW
Clin. Chem. 16 (1970) 39
- 3 BERGMAYER, H.U.
Protease Inhibitoren
Biochemie Bd. II (1970) 1021-1029
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße
- 4 BURGEN, A.S.V.
Secretory processes in salivary glands
Handbook of Physiology, Alimentary Canal,
Baltimore 35 (1967) 13-23
- 5 BURGEN, A.S.V.
The secretion of potassium in saliva
J. Physiol.(London) 132 (1956) 20-39
- 6 BURGEN, A.S.V.
The secretion of non-electrolytes in the
parotid saliva
J. cell. comp. Physiol. 40 (1956) 113-138
- 7 BURGEN, A.S.V. und N.G. EMMELIN
Physiology of the salivary gland
Arnold, London (1961) 140

- 8 BURGEN, A.S.V. und A. SEMANN
The role of the salivary duct system
in the formation of the saliva
Canad. J. Biochem. 36 (1958) 119-143
- 9 CARTER, W.J, H.R. ENGLANDER und T.B. WEBER
Chloride levels in parotid secretion
J. dent. Res. 37 (1958) 902-905
- 10 CHAUNCEY, H.H., D.M. LEVINE, G. KASS,
H. SHWACHMAN, B.L. HENRIQUES und L.L. KULCZYEKI
Composition of human saliva, parotid gland,
secretory rate and electrolyte concentration
in children with cystic fibrosis
Arch. oral Biol. 7 (1962) 707-713
- 11 DAWES, C. und G.N. JENKINS
The effects of different stimuli on the
composition of saliva in man
J. Physiol. (London) 170 (1964) 86-100
- 12 DAWES, C.
The effect of flow rate and length of
stimulation on the protein concen-
tration in human parotid saliva
Arch. oral Biol. 12 (1967) 783-788
- 13 DAWES, C.
The effects of flow rate and duration of
stimulation on the concentrations of
protein and the main electrolytes in
human parotid saliva
Arch. oral Biol. 14 (1969) 277-294

- 14 DAWES, C.
Circadian rhythms in human salivary
flow rate and composition
J. Physiol. (London) 220 (1972) 529-545

- 15 ENFORS, Bo
The parotid and submandibular secretion in man
Acta oto-laryng. (Stockholm) Suppl. 172 (1962) 1-67

- 16 ENGLANDER, H.R., L.M. MAU, K.C. HOERMAN
und H.H. CHAUNCEY
Dental caries activity and the pH,
titrable alkalinity and rate of
flow in human parotid saliva
J. dent. Res. 37 (1958) 906-911

- 17 EPPENDORF
Handbuch Flammenphotometer
4. Auflage (1970)

- 18 FERGUSON, D.B., A.L. ELLIOTT und A.J. POTTS
Variations in human parotid saliva
over 24-hour periods
J. dent. Res. Suppl. 6, 48 (1969) 1132-1138

- 19 FERGUSON, M.H., A. NAIMARK und J.A. HILDES
The interrelationship between the parotid
secretion of thiocyanate, iodide and chloride
Canad. J. Biochem. 35 (1957) 333-335

- 20 FERGUSON, M.H., H.P. KRAHN und J.A. HILDES
Parotid secretion of protein in man
Canad. J. Biochem. 36 (1958) 1001-1007

- 21 FLEURY, R., J. AGNERAY und P. CHAMPION
Amylase salivaire
Acta stomat. Belg. 60 (1963) 201-205
- 22 FLEURY, R., J. AGNERAY und LERONDEAU
Le dosage de l'activité amylasique
de la salive parotidienne
Rev. Stomat. (Paris) (1963) 361-363
- 23 FRITZ, H. und H. TSCHESCHE
Proceedings of the international research
conference on proteinase inhibitors
Walter de Gryter, Berlin (1971)
- 24 GORE, J.T.
Factors influencing the physical and
chemical properties of saliva
J. dent. Res. 35 (1956) 102-108
- 25 HEIDLAND, A., W. KREUSSER, H. HENNEMANN,
H. KNAUF und M.E. WIGAND
Excretion of the mono- and divalent ions in
relation to flow rate in BARTTER's and pseudo-
BARTTER's-syndromes in parotid saliva.
Comparative studies.
Klin. Wschr. 50 (1972) 959-966
- 26 HANSON, H.
Zusammensetzung und Funktion des Speichels
Dtsch. zahnärztl. Z. 16 (1961) 143-152
- 27 HOCHSTRASSER, K., H. HAENDLE, R. REICHERT
und E. WERLE
Über Vorkommen und Eigenschaften eines Pro-
teaseninhibitors im menschlichen Nasensekret
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem 352 (1971)

- 28 HOCHSTRASSER, K. , R. REICHERT, M. MATZNER
und E.WERLE
Hemmbarkeit proteolytischer Enzyme im patho-
logischen Nasensekret und von Leukozyten
proteasen durch den natürlichen Proteasen-
inhibitor des Nasensekretes
Z. klin. Chem. klin. Biochem 10 (1972) 104-107
- 29 JENKINS, G.N. und C. DAWES
The psychic flow of saliva in man
Arch. oral Biol. 11 (1966) 1203-1204
- 30 KEMPFLE, B.
Die Bedeutung des Zeitfaktors bei Speichelunter-
suchungen: Empfehlung einer "Speichelclearance"
Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferhk. 47 (1966) 411-416
- 31 KNAUF, H. und E. FRÖMTER
Die Kationenausscheidung der großen
Speicheldrüsen des Menschen
Pflügers Arch. ges. Physiol. (1970) 213-237
- 32 KREUSSER, W., A. HEIDLAND, H. HENNEMANN,
H. KNAUF und M. WIGAND
Speichelelektrolyte und Flußrate bei
terminaler Niereninsuffizienz
Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk.
199 (1971) 614-618
- 33 KREUSSER, W., A. HEIDLAND, A. HENNEMANN
und M. WIGAND
Die Speichelchemie beim primären Hyper-
aldosteronismus (Conn-Syndrom)
Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk.
202 (1972) 430-443

- 34 LANKISCH, P.G., H.P. BUCKESFEL ,
H.D. BOLTE und D. LARBING
Salivary electrolytes and digitalis intoxication
New Engl. J. Med. 8 (1973) 326-329
- 35 LASHLEY, K.S.
Reflex secretion of the human parotid gland
J. exp. Psychol. I (1916) 461-493
- 36 MERDER, M.Z., S. WOTMAN, I.D. MANDEL
Salivary electrolyte changes during pregnancy
Amer. J. Obstet. Gynec. 112 (1972) 233-236
- 37 MÜNZEL, M., H. EICHNER
Diskelektrophoretische Untersuchungen zum
Proteingehalt des menschlichen Parotissekretes
Z. Laryng. Rhinol. 53 (1974) 868-871
- 38 PUSKULIAN, L.
Salivary electrolyte changes during
the normal menstrual cycle
J. dent. Res. 51 (1972) 1212-1216
- 39 RAUCH, S.
Die großen Speicheldrüsen des Menschen
G. Thieme Verlag, Stuttgart (1959)
- 40 RAUCH, S. und A. KHASAR
Prüfung der Speicheldrüsenfunktion
HNO 14 (1966) 120-121

- 41 ROSE, G.A. und A.C. KERR
The amino acids and phosphoethanolamine in
salivary gland secretions of normal men and
of patients with abnormal calcium, phosphorus
and amino acid metabolism.
Quart. J. exp. Physiol. 43 (1958) 160-169
- 42 SCHNEYER, L.H. und L.K. LEVIN
Rate of secretion by individual salivary
gland pairs of man under conditions of
reduced exogenous stimulations
J. appl. Physiol. 7 (1955) 508-512
- 43 SCHNEYER, L.H., W. PIGMAN, L. HANNAHAN
und R.W. GILMORE
Rate of flow of human parotid, sublingual
and submaxillary secretions during sleep
J. dent. Res. 35 (1956) 109-114
- 44 SCHÜBEL, F. und H. KÖNIGS
Beobachtungen über das Verhalten der Gesamt-
proteine im Parotisspeichel während der
Schwangerschaft
Dtsch. zahnärztl. Z. 26 (1971) 46-51
- 45 SHANNON, I.L., R.P. FELLER und R.P. SUDDICK
Light deprivation and parotid flow in the human
J. dent. Res. 51 (1972) 1642-1644
- 46 SKURK, A., G. MLYNSKI und K. FENDEL
Methoden der quantitativen Eiweißbestimmung
im menschlichen Parotisspeichel (Univ. HNO-
Klinik, Jena)
Acta oto-laryng. (Stockholm) 71 (1971) 71-74

- 47 THAYSEN, J.H., N.A. THORN, S.L. SCHWARTZ
Excretion of sodium, potassium, chloride
and dioxide in human parotid saliva
Amer. J. Physiol. 178 (1954) 155-159
- 48 VOGT, K. und W.M. SEMMANN
Zur physiologischen Beeinflussung der Gesamt-
proteinsekretion der großen Kopfspeicheldrüsen
durch Tageszeit, Alter und Geschlecht
Z. Laryng. Rhinol. 49 (1970) 611-620
- 49 WEBER, T.B.
Rate of flow of parotid secretion
during constant stimulation
J. appl. Physiol. 15 (1960) 1043-1045
- 50 WINDELER, A.S. jr. und I.L. SHANNON
The effect of flow rate on parotid
fluid calcium and protein levels
Arch. oral Biol. 11 (1966) 1043-1045
- 51 WINDELER, A.S. jr. und I.L. SHANNON
The effect of flow rate on parotid fluid
calcium, magnesium and protein concen-
trations in man
Arch. oral Biol. 12 (1967) 1063-1069
- 52 WOLF, R.O., L.L. TAYLOR, J.D. NISWANDER
und J.T. SCHWARTZ
The heritability of human salivary
isoamylases
Arch. oral Biol. 16 (1971) 1357-1359

- 53 WOTMAN, C., I.D. MANDEL, J. MERCADANTE
und C.R. DENNING
Der Calciumgehalt von Parotis- und
Submaxilliarisspeichel bei mensch-
licher cystischer Fibrose
Arch. oral Biol. 16 (1971) 663-665
- 54 WOTMAN, S., J.T. BIGGER jr. , I.D. MANDEL
und H.J. BARTELSTONE
Salivary electrolytes in the
detection of digitalis toxicity
New Engl. J. Med. 286 (1971) 871-876
- 55 WOTMAN, S., F.J. GOODWIN, I.D. MANDEL
und J. H. LARAGH
Changes in salivary electrolytes follow-
ing treatment of primary aldosteronism
Arch. intern. Med. 124 (1969) 477-480
- 56 WOTMAN, S. und I.D. MANDEL
Salivary indicators of systemic disease
Postgrad. med. J. 53 (1973) 73-78

Meinen aufrichtigen Dank für die Überlassung
des Themas, sowie für wertvolle Ratschläge
möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. M. Münzel
aussprechen.

Mein Dank gilt ganz besonders Herrn Priv. Doz.
Dr. K. Hochstrasser für seine Unterstützung
beim experimentellen Teil der vorliegenden
Arbeit.

Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Daten:

Wolfgang Bolz

geboren am 22. 9. 1947 in München

Eltern: Hubert, Rundfunktechniker

Ursula, geb. Boller, Hausfrau

Ausbildung:

1953 - 58	Volksschule, Ismaning
1958 - 67	Luitpold-Gymnasium, München
1967	Reifeprüfung, Luitpold-Gymnasium
SS 1967	Zulassung zum Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilians Universität, München
SS 1968	naturwissenschaftliche Vorprüfung, Zahnmedizin
SS 1970	Zulassung zum Studium der Medizin und naturwissenschaftliche Vorprüfung, Medizin
SS 1971	ärztliche und zahnärztliche Vorprüfung
SS 1974	zahnärztliche Prüfung (Staatsexamen)
ab 1974	Anstellung als Zahnarzt in freier Praxis

